

Ischemia tolerance of the hypertrophied rat heart

Citation for published version (APA):

Snoeckx, L. H. E. H. (1987). *Ischemia tolerance of the hypertrophied rat heart*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19871218ls>

Document status and date:

Published: 01/01/1987

DOI:

[10.26481/dis.19871218ls](https://doi.org/10.26481/dis.19871218ls)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY

Serious complications can be encountered during open heart surgery of the hypertrophied human myocardium. Indeed, this type of heart is known to have a decreased tolerance for global ischemia as induced during surgical cardiac arrest. Cardiac performance during recovery after surgery can be seriously impaired while structural damage is present to a higher degree than in non-hypertrophied hearts. In combination with these events, among others, a pronounced depletion of intracellular energy stores is found. The underlying mechanisms causing these phenomena are incompletely understood.

The aim of the present thesis is to investigate whether a decreased tolerance for global ischemia is also occurring in the isolated rat heart, hypertrophied as a consequence of increased blood pressure, induced by abdominal aortic constriction or by genetic selection as in the spontaneously hypertensive rat (SHR). To obtain more insight in the nature of the decreased tolerance to ischemia and/or reperfusion the functional recovery of these hearts after a period of global ischemia, if any, has been investigated in relation to different variables, including the type of hypertrophy, the age of the experimental animal, the pre-ischemic and post-ischemic coronary perfusion pressure, the pre-ischemic and post-ischemic regional coronary flow distribution, the pre-ischemic, end-ischemic and post-ischemic tissue content of energy-rich phosphates, the post-ischemic loss of intracellular enzymes and degradation products of adenine nucleotides, and the post-ischemic occurrence of ventricular fibrillation.

In chapter II the materials and biochemical techniques, applied in the various studies, are described. A modified isolated heart perfusion

system has been presented, in which special attention is paid to the physical characteristics of the artificial aortic outflow tract. The determination of the tissue contents of energy-rich phosphates and the degradation products of adenine nucleotides by high pressure liquid chromatography is described in detail. The finding that bovine serum albumin can stabilize and enhance enzyme activity in artificial perfusion solutions, as used in the isolated heart perfusion set-up, is also described in this chapter.

An automated system for data acquisition in the isolated, ejecting heart preparation is presented in chapter III. It is shown that reliable information about the hemodynamic behavior of the isolated heart can be obtained in a fast way by using a relatively inexpensive microcomputer in combination with a home-made preprocessor.

In chapter IV, the hemodynamic and biochemical behavior of the isolated, ejecting heart preparation under normoxic conditions is described. It is shown that hypertrophied rat hearts can maintain a stable hemodynamic function for more than 2 hours after isolation from the body. Besides, it was found that biochemical variables, like the tissue content of adenine nucleotides, glycogen, lactate and inorganic phosphate hardly change during this period, while the content of creatine phosphate and the energy charge of the cardiac tissue increase. Biochemical determinations reveal that in native heart tissue of relatively old (16 months) SHR the adenosine triphosphate (ATP; $p < 0.05$) and creatine phosphate (CP) content is significantly lower than in hearts of age-matched, non-hypertensive Wistar-Kyoto (WKY) rats. In contrast, in hearts of relatively young (5 months) aorta-banded rats no differences in these variables are found between aorta-banded and sham-operated animals. Significantly lower activities of lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase (AST) are found in native heart tissue of SHR than WKY rats at the age of 8 months. At higher age, however, these differences disappear. At the age of 16 months higher LDH activities are found in SHR than in WKY rats.

The first experiments, in which hypertrophied hearts are subjected to ischemia are described in chapter V. For this purpose, hearts of relatively old (16 months) SHR and age-matched WKY rats are used. Following a period of global ischemia the hypertrophied hearts show a significantly less pronounced recovery of cardiac output than the hearts of WKY rats, i. e. 10% versus 70%. The pressure-volume curves, as constructed during the reperfusion period, reveal that changes in preload from 0.66 to 2.66 kPa at afterloads varying between 10.6 and 18.6 kPa do not result in pump function of the hypertrophied myocardium. Related to this finding is the observation that significantly higher post-ischemic activities of LDH and AST are found in the coronary effluent of the hypertrophied than of the control hearts. Besides, after one hour reperfusion the tissue content of ATP and CP are less decreased in the WKY than in the SHR hearts. These results suggest a higher susceptibi-

lity to global ischemia of the hypertrophied heart of relatively old SHR as compared to the heart of age-matched WKY rats.

Basically the same protocol is used in a study on hearts of 5 months old aorta-banded and sham-operated rats, 10 weeks after abdominal surgery. The results of these experiments are described in chapter VI. Only 4 out of 9 hypertrophied hearts show normal electrical and mechanical recovery following ischemia. In contrast to the control hearts, in the hypertrophied hearts a significantly depressed post-ischemic pump function is observed, although the pre-ischemic function is at least as high as in the control hearts. The diminished functional recovery of the hypertrophied hearts after global ischemia is associated with significantly lower coronary flow values. Significantly higher LDH activities are released from the recovering hypertrophied hearts than from the control hearts. Extensive investigation of the loss of degradation products of adenine nucleotides reveals a significantly higher loss of these products in control hearts than in hypertrophied hearts during the first 10 minutes of the reperfusion period. This is compensated by a more pronounced loss of metabolites in the hypertrophied hearts during the remaining reperfusion period. Comparison of the tissue adenine nucleotide content and the energy charge at the end of the reperfusion period show comparable values in the control and recovering hypertrophied hearts. Significantly lower values are found in the non-recovering hypertrophied hearts. From this study it is concluded that the decreased tolerance of the hypertrophied heart to ischemia is also present in the relatively young aorta-banded animal. This phenomenon can be associated with a delayed wash-out of degradation products of adenine nucleotides, in both the recovering and the non-recovering hypertrophied heart. If functional recovery is present in the hypertrophied heart, the loss of LDH is high, indicating a more pronounced irreversible damage of myocardial cells. In contrast to the findings in the old SHR hearts, the less pronounced post-ischemic restoration of myocardial pump function is not associated with a lower tissue adenine nucleotide content at the end of the reperfusion period, at least not in the recovering hypertrophied hearts. These results suggest that the delayed wash-out of myocardial metabolites is related to post-ischemic changes in the regional distribution of coronary flow.

The experiments, as described in chapter VII, are designed for extensive investigation of the coronary flow distribution with radioactive microspheres. Again in isolated hearts of relatively old (18 months) SHR, the mechanical activity is completely absent during reperfusion after global ischemia, when a coronary perfusion pressure of 8.0 kPa is applied. At higher perfusion pressure (13.3 kPa) hypertrophied hearts regain regular electrical and mechanical activity, but do not exert pump function of any importance. At a post-ischemic coronary perfusion pressure of 8.0 kPa, hypertrophied hearts show no-reflow in the left ventricular endocardium and substantially reduced myocardial flow in the epi-

cardial layers. No-reflow is associated with significantly elevated post-ischemic tissue levels of lactate, inorganic phosphate, and degradation products of adenine nucleotides such as adenosine, inosine, hypoxanthine, and xanthine. At a relatively high reperfusion pressure (13.3 kPa), epicardial flow normalizes completely but the endocardial layers remain significantly underperfused (43% of the pre-ischemic levels). In these hearts, post-ischemic accumulation of metabolites is absent, while the tissue content of CP, ATP and glycogen is significantly higher than in hearts perfused at 8.0 kPa. These findings indicate that the diminished tolerance to ischemia of the hypertrophied heart of the relatively old SHR can be partially explained by inadequate reperfusion of the myocardial tissue when perfusion pressure is relatively low. Although elevation of the coronary perfusion pressure does not result in ejection function of any importance, it ameliorates mechanical performance and coronary perfusion without the occurrence of tissue edema of any significance, and prevents ventricular fibrillation.

Finally, susceptibility to ischemic damage is evaluated in hypertrophied hearts of relatively young, (8 months) SHR, in which the stage of myocardial hypertrophy is stable and fully compensated (chapter VIII). The findings in this study indicate that, as in the old SHR, the degree of post-ischemic functional recovery of the hypertrophied hearts is dependent on the height of the coronary perfusion pressure. In contrast to old SHR, at 8.0 kPa normal electrical function is regained. Recovery of pump function is even present, although to a modest degree. At 13.3 kPa, the recovery in cardiac output is almost complete. In combination with these findings, post-ischemic accumulation or delayed wash-out of metabolites of cardiac metabolism was absent.

In conclusion, it can be stated that two majors factors are involved in the increased susceptibility to global ischemia of the hypertrophied rat heart. Firstly, hearts of relatively old animals, in which cardiac decompensation is present or developing, are very vulnerable to ischemic damage. Adequate post-ischemic recovery of cardiac pump function is never encountered in these hearts. Secondly, probably because of altered coronary vascular properties, inadequate reperfusion of the hypertrophied myocardial tissue can occur, even when pre-ischemic regional myocardial perfusion is normal.

It is tempting to state that the present experimental findings have important clinical significance. Post-operative malfunction of hypertrophied hearts subdued to global ischemia during cardiac surgery may be prevented by initial reperfusion at relatively high perfusion pressures.

Tijdens open-hartchirurgie bij patiënten met een hypertroof hart kunnen ernstige cardiale complicaties optreden. Het hypertrofe hart heeft namelijk een verlaagde tolerantie voor ischemie, zoals deze zich voordoet tijdens het intra-operatief stilleggen van de doorbloeding van het hart, nodig voor het verrichten van intracardiale ingrepen. Het herstel van de pompfunctie van het hart tijdens de directe post-operatieve fase kan ernstig afgenomen zijn, terwijl in het hypertrofe hart meer uitgesproken structurele beschadigingen gevonden worden dan in niet-gehypertrofieerde harten. Tegelijkertijd treedt ernstige depletie van intracellulaire energievoorraden op. De mechanismen verantwoordelijk voor deze verschijnselen zijn niet geheel duidelijk.

In deze thesis wordt onderzocht of de verminderde ischemietolerantie ook aantoonbaar is in geïsoleerde ratteharten, gehypertrofieerd ten gevolge van verhoogde bloeddruk, geïnduceerd door vernauwing van de abdominale aorta, of genetische selectie, zoals in de spontaan hypertensieve rat. Het eventuele functionele herstel van deze hypertrofe harten na een periode van ischemie wordt gerelateerd aan verschillende variabelen zoals het type hypertrofie, de leeftijd van het proefdier, de pre- en post-ischemische perfusiedruk in de kransslagaders, de pre- en post-ischemische regionale verdeling van de myocardiale doorbloeding, de pre-, eind- en post-ischemische weefselinhoud aan energierijke fosfaten en hun afbraakprodukten, het post-ischemische verlies van enzymen en het post-ischemische optreden van ventrikel fibrilleren.

De gebruikte materialen en methoden worden gepresenteerd in hoofdstuk II. Een perfusie-opstelling voor geïsoleerde harten wordt beschreven waarbij vooral aandacht wordt besteed aan de fysische eigenschappen van de uitstroomopening van de aorta. Het gebruik van hoge-

druk kolomchromatografie voor de bepaling van energierijke fosfaten en hun afbraakprodukten wordt uitvoerig beschreven. Ook wordt aandacht besteed aan de bevinding dat de toevoeging van runderserum albumine aan kunstmatige perfusievloeistoffen de eventueel hierin aanwezige enzymactiviteit kan stabiliseren.

Een geautomatiseerd systeem voor dataverwerking wordt gepresenteerd in hoofdstuk III. Aangetoond wordt dat betrouwbare informatie omtrent het hemodynamisch gedrag van het geïsoleerde hart verkregen kan worden met behulp van een relatief goedkope microcomputer in combinatie met een preprocessor.

Het hemodynamische en biochemische gedrag van het geïsoleerde, ejecterende rattehart onder normoxische omstandigheden wordt beschreven in hoofdstuk IV. Aangetoond wordt dat het geïsoleerde hypertrofe rattehart in staat is langer dan twee uur een stabiele hemodynamische functie te behouden. Ook wordt vastgesteld dat biochemische variabelen, zoals de weefselinhoud aan adenine nucleotiden, glycogeen, laktaat en anorganisch fosfaat nauwelijks wijzigen tijdens deze perfusieperiode, terwijl de inhoud aan creatinefosfaat (CP) en de energy charge zelfs toenemen. Biochemische bepalingen in natief hartweefsel van relatief oude (16 maanden) spontaan hypertensieve ratten (SHR) laten zien dat er een significant lager gehalte aan adenosinetrifosfaat (ATP) en (CP) aanwezig is in deze harten dan in harten van even oude, niet-hypertensieve Wistar-Kyotoratten (WKY). In hypertrofe harten van relatief jonge (5 maanden) ratten daarentegen worden geen verschillen gevonden tussen ratten met een vernauwde aorta en even oude sham-geopereerde dieren. Significant lagere laktaatdehydrogenase (LDH) en aspartaataminotransferase (AST) activiteiten worden aangetroffen in natief hartweefsel van 8 maanden oude SHR dan in de harten van even oude WKY. In 16 maanden oude dieren daarentegen zijn deze verschillen niet meer aanwezig. Hier worden zelfs hogere LDH activiteiten aangetroffen in harten van SHR dan in deze van WKY.

De eerste experimenten, waarin hypertrofe harten worden onderworpen aan een periode van ischemie, worden beschreven in hoofdstuk V. Hiervoor worden harten van relatief oude (16 maanden) SHR en WKY gebruikt. Na een periode van totale ischemie vertonen de hypertrofe harten een significant geringer herstel in hartminuutvolume dan harten van WKY (10% versus 70%). De druk-volume curves, zoals geconstrueerd tijdens de reperfusiefase, laten zien dat verhoging van de preload van 0.66 tot 2.66 kPa bij afterloads, variërend tussen 10.6 en 18.6 kPa, geen verandering induceert in de pompfunctie van het hypertrofe myocard. Tevens wordt vastgesteld dat significant hogere post-ischemische LDH- en AST-activiteiten werden aangetroffen in het kransadereffluent van hypertrofe dan van controleharten. Tevens wordt vastgesteld dat aan het einde van de reperfusieperiode de weefselinhoud aan ATP en CP minder sterk is afgenomen in harten van WKY dan van SHR. Deze resultaten suggereren dat het relatief oude hypertrofe SHR hart meer gevoe-

lig is voor ischemische beschadiging dan het niet-hypertrofe hart van even oude WKY.

Nagenoeg hetzelfde protocol wordt gebruikt in een studie van harten van 5 maanden oude aorta-gebandeerde en controleratten, uitgevoerd 10 weken na operatief ingrijpen (hoofdstuk VI). Na ischemie tonen slechts 4 van de 9 gehypertrofieerde harten normale elektrische activiteit en mechanisch herstel. In tegenstelling tot in de controleharten wordt in deze harten een sterk verlaagde post-ischemische pompfunctie vastgesteld, die gepaard gaat met een significant verlaagde myocardiële doorbloeding. De hypertrofe harten stellen significant hogere post-ischemische LDH-activiteiten vrij dan de controleharten. Tijdens de eerste 10 minuten van de reperfusiefase verliezen deze laatste meer afbraakprodukten van energierijke fosfaten dan de hypertrofe harten. Dit verschil wordt evenwel gecompenseerd door een meer uitgesproken verlies van deze afbraakprodukten door de hypertrofe harten tijdens de latere reperfusiefase. Vergelijking van de weefselinhouden aan energierijke fosfaten en de energy charge aan het einde van de reperfusieperiode tonen vergelijkbare waarden in de controleharten en de herstellende hypertrofe harten, terwijl significant lagere waarden gevonden worden in de niet-herstellende hypertrofe harten. Deze resultaten tonen ondermeer aan dat de verhoogde gevoeligheid voor ischemische beschadiging ook aanwezig is in het hypertrofe hart van de relatief jonge rat. Bovendien kan worden vastgesteld dat het slechtere functieherstel gepaard kan gaan met een vertraagde uitwas van afbraakprodukten van adenine nucleotiden, zowel in de herstellende als niet-herstellende hypertrofe harten. Indien functieherstel aanwezig is in het hypertrofe hart treedt er een groot verlies aan LDH op, wat duidt op een meer uitgesproken beschadiging van myocardiële cellen dan in controleharten. In tegenstelling tot de bevindingen in de oudere SHR kan het slechtere herstel in de hypertrofe harten van aorta-gebandeerde ratten niet worden verklaard door een lagere weefselinhoud aan adeninenucleotiden. De resultaten van deze studie indiceren dat er een causaal verband bestaat tussen post-ischemische regionale verdeling van de hartspierdoorbloeding en de vertraagde uitwas van afbraakprodukten.

In hoofdstuk VII worden experimenten beschreven die tot doel hebben uitvoeriger de myocarddoorbloeding tijdens de pre- en post-ischemische fase te bestuderen met behulp van radioactieve microsferen. In geïsoleerde harten van relatief oude (18 maanden) SHR wordt vastgesteld dat de mechanische activiteit volledig afwezig is tijdens reperfusie na een periode van globale ischemie wanneer een perfusiedruk van 8.0 kPa wordt gebruikt. Bij een hogere perfusiedruk (13.3 kPa) treedt er wel een normaal elektrisch en mechanisch herstel op, maar de harten vertonen geen pompfunctie van enige betekenis. Bij een perfusiedruk van 8.0 kPa vertonen hypertrofe harten geen herstel van doorstroming ("no-reflow") in het endocard en een sterk afgenomen doorstroming in het epicard. No-reflow in het endocard gaat gepaard met significant toegenomen

men weefselconcentraties aan laktaat, anorganisch fosfaat, en van afbraakprodukten van adeninenucleotiden zoals adenosine, inosine, hypoxanthine, en xanthine. Bij een hoge perfusiedruk treedt er een normalisatie op van de epicardiale doorstroming, maar deze van het endocard blijft significant verlaagd (43% van de pre-ischemische waarde). In deze harten treedt geen accumulatie op van afbraakprodukten, terwijl de inhoud aan CP, ATP en glycogeen significant hoger is dan in harten die geperfundeed worden bij 8.0 kPa. Deze bevindingen tonen aan dat, wanneer de perfusiedruk relatief laag is, de verminderde tolerantie voor ischemische beschadiging van het hypertrofe hart van de relatief oude SHR tot op zekere hoogte verklaard kan worden door de onvoldoende doorstroming van het myocardweefsel. Alhoewel verhoging van de perfusiedruk niet resulteert in pompfunctie van enige betekenis, verbetert de elektrische functie, de contractiekracht en de myocardiale doorbloeding zonder een significante toename in weefseloedeem.

Tenslotte wordt de gevoeligheid voor ischemische beschadiging geëvalueerd in hypertrofe harten van relatief jonge SHR (hoofdstuk VIII). Evenals in de oude SHR laten de bevindingen in deze studie zien dat de graad van post-ischemisch herstel afhankelijk is van de hoogte van de perfusiedruk in de kransslagaders. Bij 8.0 kPa wordt in tegenstelling tot bij de oudere harten, een normaal elektrisch herstel aangetroffen. Ook functioneel herstel is aanwezig, hoewel matig. Bij een perfusiedruk van 13.3 kPa is het herstel in hartminuutvolume nagenoeg volledig. Post-ischemische ophoping of vertraagde uitwas van afbraakprodukten wordt niet aangetroffen.

Samenvattend kan worden gesteld dat 2 factoren een belangrijke rol spelen bij de verhoogde gevoeligheid van het hypertrofe hart voor ischemische beschadiging. Ten eerste wordt een zeer uitgesproken gevoeligheid voor ischemische beschadiging aangetroffen bij hypertrofe harten van relatief oude dieren, waarin cardiale decompensatie aanwezig is of zich ontwikkelt. Onder de omstandigheden van deze studies werd een adequaat post-ischemisch pompfunctieherstel van deze harten nooit aangetroffen. Ten tweede kan onvolledige reperfusie van myocardweefsel optreden tengevolge van veranderde vasculaire eigenschappen, zelfs wanneer de pre-ischemische regionale hartspierdoorbloeding normaal is. Afwezigheid van of een gevoelig tekort aan perfusie tijdens de initiële reperfusiefase kan de ischemische beschadiging versterken.

Het lijkt aannemelijk dat de resultaten van deze thesis belangrijke klinische implicaties hebben. De bevindingen suggereren dat het slechte post-operatieve functioneren van het hypertrofe hart dat werd onderworpen aan intracardiale ingrepen, verbeterd kan worden door een initiële doorstroming van het kransslagadervaatbed bij een selectief verhoogde perfusiedruk.